

**Das Vorkommen von Sarkosporidien
bei Schlachtschafen in Süddeutschland**

Archibald Bierschenck

1979



Digitized by the Internet Archive
in 2026

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

Aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München

Vorstand: Prof.Dr.med.vet.Dr.h.c.J.Boch

Das Vorkommen von Sarkosporidien bei Schlachtschafen
in Süddeutschland

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität
München



von

Archibald Bierschenok

aus

Aying/Ldkrs. München

München 1979

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Kräußlich

Referent: Prof. Dr. Dr.h.c. J. Boch

Korreferent: Prof. Dr. W. Kreuzer

Tag der Promotion: 23. Februar 1979



Das Vorkommen von Sarkosporidien bei Schlachtschafen in Süddeutschland

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	Seite
I. Einleitung	1
II. Biologie, Pathogenität und Vorkommen der Sarkosporidien des Schafes (anhand der Literatur)	2
III. Eigene Untersuchungen	12
A) Material und Methode	12
B) Ergebnisse	17
1. Nachweis von Sarkosporidien mit unterschied- lichen Methoden	
a) Trypsinverdauung	17
b) Zystenisolierung	18
c) Trichinoskopie	19
d) Makroskopie	19
2. Differenzierung der beiden beim Schaf vor- kommenden Sarkosporidienarten	22
3. Vergleich von Schlund und Zwerchfell beim Nachweis von Sarkosporidien	26
4. Serologische Untersuchung von Schafseren auf Sarkosporidien-Antikörper mit dem ELISA	26
IV. Besprechung der Ergebnisse	28
V. Zusammenfassung	32
Summary	33
VI. Literaturverzeichnis	34
Lebenslauf	

I. Einleitung

Untersuchungen der letzten Jahre haben ergeben, daß bei Schafen 2 verschiedene *Sarcocystis*-Arten vorkommen, die Hund bzw. Katze als Endwirte haben. Neben der bisher üblichen trichinoskopischen Feststellung werden Sarkosporidien neuerdings durch das recht empfindliche Trypsinverfahren nachgewiesen. Je 1000 Schweine und Rinder aus Süddeutschland wurden kürzlich vergleichend mit den verschiedenen Methoden überprüft; dabei erwiesen sich Rinder zu 99 % und Mastschweine zu 9 % als Sarkosporidienträger. Bei Schafen fehlen derartige systematische Untersuchungen.

Das Ziel dieser Arbeit war es, mit Hilfe der Trichinoskopie, des Zystozoitennachweises und der Zystendifferenzierung das Vorkommen von Sarkosporidien bei Schafen an mehreren süddeutschen Schlachthöfen festzustellen. Gleichzeitig sollten orientierende serologische Untersuchungen (ELISA) eventuelle Zusammenhänge zwischen der tatsächlichen Stärke des Parasitenbefalls und den Titerhöhen aufweisen.

II. Biologie, Pathogenität und Vorkommen der Sarkosporidien des Schafes (anhand der Literatur)

MIESCHER stellte 1843 als erster "eigentümliche Schläuche" in der Muskulatur einer Hausmaus, später in der von Ratten fest. Mit bloßem Auge erkennbar lagen diese als weiße Streifen in Längsrichtung der Muskelfaser. Ähnliche Gebilde erkannte HESSLING (1854) in der Herzmuskulatur von Ochse, Kalb und Schaf, nachdem er sie schon 8 Jahre vorher an einem Reh festgestellt hatte. Wie MIESCHER (1843) zeichnete und beschrieb auch er Hülle und Inhalt; beide waren jedoch unsicher, ob es sich um Muskelfasermißbildungen oder um parasitäre Wesen handelte. Neben "Miescherschen Schläuchen" wurden sie auch als "Rainey'sche Körperchen" bezeichnet. Aufgrund der typischen Lage in der Muskelfaser nannte sie BALBIANI (1882) Sarcosporidia. LANKESTER (1882) stellte den bis heute gültigen Gattungsnamen Sarcocystis auf.

RAILLET (1886) nannte die kleinen Muskelzysten des Schafes Miescheria tenella, die großen Balbiania gigantea. BERGMANN (1913) wie auch der von ihm zitierte KITZ waren sich nicht sicher, ob die großen "interfibrillär" liegenden Schläuche nur ältere Formen der kleineren "intrafibrillären" darstellten. Sporoblasten- und Sporenmessungen beider ergaben fast identische Maße. Als Infektionsweg sah BERGMANN (1913) die orale Aufnahme an; die "Körperchen" würden sich über den Blut- und Lymphweg in der "roten Muskulatur" ansiedeln.

Um die Biologie der Sarkosporidien zu klären, wurden weltweit Übertragungsversuche an verschiedensten Tierarten durchgeführt; sie führten jedoch zu widersprüchlichen Ergebnissen. ROMMEL, HEYDORN und GRUBER (1972) führten in ihrem Beitrag zum Lebenszyklus der Sarkosporidien die Autoren CREECH (1922) und SCOTT (1943) an, welche die allerdings experimentell nicht belegte Theorie aufstellten, daß Karnivoren Endwirte der Sarkosporidien seien.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen ergaben, daß Sarkosporidien in ihrer Feinstruktur weitgehend mit den Toxoplasmen übereinstimmen (LUDVIK, 1956 und 1960; SIMPSON, 1966; ZEVE, PRICE und HERMAN, 1966). Auch die bei Toxoplasmen und Besnoitien beobachtete Endodyogenie konnte bei Sarkosporidien nachgewiesen werden (SÉNAUD, 1965).

ROMMEL, HEYDORN und GRUBER (1972) führten Versuche an normal und isoliert gehaltenen Katzen und Hunden durch. Nach Infektion mit makroskopischen Sarkosporidienzysten, welche aus Hammelschlünden isoliert worden waren, fanden sie nach einer 12-13tägigen Präpatenz im Kot der Katzen für 25-53 Tage sporulierte, farblose, ca. $12,4 \times 8,1 \mu\text{m}$ große Sporozysten, die je 4 Sporozoiten, einen grobkörnigen Restkörper, aber keinen Stiedakörper enthielten. Hunde schieden keine Sporozysten aus. Reinfektionsversuche ergaben ähnliche Ergebnisse. Die im Katzenkot ausgeschiedenen Sporozysten wurden als Entwicklungsstufen von *Sarcocystis tenella* angesprochen. Um weitere Endwirte von *Sarcocystis tenella* und *Sarcocystis fusiformis* sowie *Sarcocystis miescheriana* zu finden, fütterten ROMMEL und Mitarb. (1974) Katzen, Hunde, Wölfe, Rotfüchse, Hyänen und einen Braunbären mit infiziertem Muskelfleisch. Hunde, Katzen und eine Versuchsperson erhielten makroskopisch sichtbare Zysten von *Sarcocystis tenella*, doch nur Katzen schieden nach einer neu ermittelten Präpatenz von 11-14 Tagen über 6 Wochen lang durchschnittlich $12,4 \times 8,1 \mu\text{m}$ große Sporozysten aus. Die Fütterung von Schaffleisch, das nur mikroskopische Zysten enthielt, führte bei Hunden nach 8-9 Tagen zur Ausscheidung von durchschnittlich $14,8 \times 9,9 \mu\text{m}$ großen Sporozysten. Katzen wurden mit diesem Material nicht gefüttert.

Die Sarkosporidien sind obligat zweiwirtig. Karnivoren und der Mensch sind Endwirte, während Pflanzenfresser, einige Omnivoren und Nagetiere als Zwischenwirte fungieren.

Im Gegensatz zu allen anderen bisher untersuchten Gattungen entwickeln sich im Endwirt aus den oral aufgenommenen Zysten direkt, also ohne vorausgehende Schizogonie, Gamonten. Die Sporogonie erfolgt in der Darmwand des Karnivoren oder Menschen, so daß voll sporulierte Oozysten bzw. Sporozysten ausgeschieden werden (ROMMEL, 1975).

Um über den Entwicklungszyklus der Sarkosporidien bei Hund und Schaf mehr Einzelheiten zu bekommen, führten MUNDAY, BARKER und RICHARD (1975) Versuche durch, bei denen Hunde mit mikroskopischen Zysten von Schafen infiziert wurden. Um den intestinalen Entwicklungszyklus im Endwirt genau verfolgen zu können, wurden die Hunde in kurzen Abständen bis zur 3. Woche p.i. getötet. Die gefundenen Ergebnisse untermauern jene von ROMMEL, HEYDORN und GRUBER (1972). Mit den aus dem Kot der Hunde ausgeschiedenen Sporozysten inkulierten sie anschließend Lämmer, um bei ihnen die Weiterentwicklung im Zwischenwirt bis zum 104. Tag p.i. zu studieren. Hierbei machten sie ähnliche Beobachtungen. DUBEY und STREITEL (1976) fütterten Hunde und Katzen mit verschiedenen Organ- und Muskelproben von 100 Schafen, in deren Herzen eindeutig Sarkosporidien nachgewiesen worden waren. Jedoch über die Hälfte des Infektionsmaterials bewirkte weder bei Hund noch bei Katze eine Sporozystenausscheidung. Der Rest des Fleisches führte nur bei Katzen zu einem positiven Ergebnis. COLLINS, CHARLESTON und MORIARTY (1976) vertraten die Auffassung, daß makroskopische Muskelzysten im Schafe, mit der Katze als Endwirt, 2 oder gar 3 Arten repräsentieren könnten. Sie teilten diese Zysten nach ihrem Längen- und Breitenverhältnis und der histologischen Wandstruktur in "dicke", "dünne" und "Oesophaguszysten" ein. Jedoch konnten nach Verfütterung dieser "3" Arten an Katzen in deren Fäzes keine signifikanten Unterschiede der Größe der Sporozysten ermittelt werden. Infizierte Hunde reagierten stets negativ. In England gelang es ASHFORD (1977), den Rotfuchs als weiteren Endwirt für Sarkosporidien des Schafes nachzuweisen. Der zeitliche Ablauf der intestinalen Entwicklung entsprach dem des Hundes.

Aus Ohio, USA wird von STREITEL und DUBEY (1976) berichtet, daß von 500 streunenden Hunden 1,8 % Sporozysten ausschieden; von Katzen im gleichen Gebiet gaben CHRISTIE, DUBEY und PAPPAS (1976) eine Befallsstärke von 0,2 % an. SIBALIĆ, TOMANOVIĆ und SIBALIĆ (1977) untersuchten den Kot von 282 in Jugoslawien einzeln gehaltenen Hunden und stellten eine Sporozystenausscheidung bei 4,6 % fest. Bei Zwingerhunden lag diese bei bis zu 70 %. Aus England berichten FARMER und Mitarb. (1978), daß von 123 Hühnerhunden 36,5 %, von 33 Greyhounds 24 % und von 41 Rotfüchsen 17 % Sporozysten im Kot aufwiesen. Anhand der Sporozystendimensionen differenzierten sie in Sarkosporidien von Schwein, Rind und Schaf. Dabei ergab sich, daß bei den Hühnerhunden 50 %, bei den Greyhounds 75 % und bei den Füchsen 100 % zur Spezies *Sarcocystis ovis* gehörten.

MEHLHORN und SCHOLTYSECK (1973) führten licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Zystenstadien aus der Oesophagusmuskulatur des Schafes durch. Sie differenzierten zwischen einer inneren 250 Å dünnen Primär- und einer eigentlichen bis 3 µm dicken Sekundärhülle. Beide Hüllen sollen neben granulierter Grundsubstanz auch Myofibrillen enthalten haben. Erstere zeigte zerklüftete, baumartige Wandvorwölbungen. Letztere war 2-schichtig aufgebaut, davon der äußere Anteil lamellär und beidseitig von Einheitsmembranen begrenzt. MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH (1975) stellten ähnliche Studien an *Sarcocystis ovis* aus der Schlundmuskulatur von experimentell infizierten Schafen an. Am 81. Tag p.i. erreichten die Zysten eine Wanddicke von 3,5 µm. Die "Primärhülle" wies dichte, parallele, im Querschnitt polygonale und 1,2 µm dicke, palisadenartige Vorwölbungen auf. Eine "Sekundärhülle" war nicht vorhanden. BERGMANN und KINDER (1975) teilten nach der Größe der Zysten die Sarkosporidien des Schafes in mikroskopische und makroskopische Typen ein. Bei ersteren unterschieden sie dünn- und dickwandige. Die dünnwandigen Mikrozysten wiesen unregelmäßig gerichtete, feine zottige Wandausstülpungen auf, die außen durch eine glatte, porenlose Membran begrenzt waren.

Die dickwandigen Mikrozysten trugen als Wandfortsätze einen dichten, regelmäßigen Besatz aus Vorwölbungen, deren Durchmesser ca. 0,5 μm war. Die Makrozysten wiesen baumartige Wandausläufer mit Mikrotubuli auf, die jedoch keine Wirtsfibrillen, sondern vom Parasiten induzierte Doppelfilamentbildungen waren. Die Primärhüllmembran bildete zusätzlich tentakelartige Fortsätze, die zusammen mit den Wandvorwölbungen das anliegende Wirtsgewebe zerstörten. Um die befallene Muskelzelle lag eine lamellär geschichtete hyaline Hüllschicht als Basalmembranexzeßbildung der Wirtszelle. Umliegende Wirtszellorganellen waren stark proliferiert. Als 3. Hülle wiesen alte Makrozysten gelegentlich Schichten aus fibrozytenhaltigem Bindegewebe auf. Die Ultrastruktur von 13 verschiedenen Sarcocystis-Spezies verglichen MEELHORN, HARTLEY und HEYDORN (1976). Sie bestätigten im wesentlichen vorausgegangene Strukturergebnisse. Sarcocystis ovis hatte 3,5 μm lange Vorwölbungen, bei denen Membraninvaginationen nur an der Basis vorlagen, aber nie Fibrillen oder Tubuli aufwiesen. Eine Sekundärhülle gab es nicht. Sarcocystis tenella (makroskopische Zysten) hatte blumenkohlartige 4 μm lange Primärwandvorwölbungen mit Invaginationen an der gesamten Membranoberfläche. In der Grundsubstanz der Vorwölbungen lagen unregelmäßige Mikrotubuli. Sarcocystis tenella hatte stets eine kollagene Sekundärhülle. Wesentlich war bei der vergleichenden Studie, daß zur Artendifferenzierung der Schafssarkosporidien, analog zu Sarcocystis bovis und Sarcocystis bovifelis, die unterschiedliche Hülle der Muskelzysten ausreichte.

Die einzelnen Sarkosporidienarten sollen nach dem Vorschlag von HEYDORN und Mitarb. (1975) mit einem aus der zoologischen Gattungsbezeichnung von Zwischen- und Endwirt zusammengesetzten Wort benannt werden. Die beiden beim Schaf bisher bekannten Arten wären demnach Sarcocystis ovis (mikroskopischer Typ; Endwirt: Hund) und Sarcocystis ovifelis (makroskopischer Typ; Endwirt: Katze). Nach den gültigen Nomenklaturregeln müssen jedoch die einmal gebildeten Namen weiterverwendet werden (LEVINE, 1969, 1977).

Mit der alten Bezeichnung *Sarcocystis tenella* wäre demnach die Art des Schafes zu verstehen, für welche die Katze als Endwirt fungiert, während für die mit dem Hund als Endwirt der Name *Sarcocystis ovicanis* gültig ist (LEVINE, 1977). Da jedoch eine Entscheidung gegen den Nomenklaturvorschlag von HEYDORN und Mitarb. (1975) nicht gefallen ist, soll sie in der vorliegenden Arbeit verwendet werden.

Um über die Pathogenität der Sarkosporidien für Schafe Näheres zu erfahren, wurden zahlreiche Versuche durchgeführt. GESTRICH, SCHMITT und HEYDORN (1974) infizierten isoliert gehaltene Lämmer mit bis zu 2 Millionen Sporozysten aus Hundekot. Zwei Wochen nach Inokulation traten starkes Fieber, Inappetenz und nach Temperaturanstieg auf über 41°C der Tod am 24. bzw. 25. Tag ein. Sporozysten aus Katzenkot führten in Vergleichsversuchen niemals zur Erkrankung. HEYDORN und GESTRICH (1976), LEEK, FAYER und JOHNSON (1977) sowie LEEK und FAYER (1978) führten Übertragungsversuche an normalgehaltenen Lämmern mit verschiedenen hohen Sporozystendosen durch. Dabei brachten bis zu 200 000 Sporozysten aus Hundefäzes mehr oder weniger schwere Erkrankungen. Obwohl sich die Tiere langsam erholten, blieb deren Körpertemperatur noch für Wochen über physiologischen Werten, und die Gewichtszunahme war stark verzögert. Anzeichen schwerer klinischer Erkrankung zeigten Lämmer, die 1 Million Sporozysten erhalten hatten. Vom 22. - 28. Tag p.i. stieg das Fieber auf $41,7^{\circ}\text{C}$ an, dann traten Inappetenz und starke Anämie auf. Zu dieser Zeit waren in Gefäßendothelien der Organe Schizonten und Merozoiten nachzuweisen. Histologisch waren schwere entzündlich-hämorrhagische Veränderungen an der Muskulatur und den parenchymatösen Organen zu beobachten.

LEEK und FAYER (1978) beschrieben die Auswirkungen von 11 künstlich mit Sporozysten des Hundes infizierten Mutterschafen. Den in drei Gruppen eingeteilten Tieren wurden im zweiten Drittel der Gravidität verschieden hohe Dosen verabreicht, was bewirkte, daß alle Mutterschafe, entsprechend der erhaltenen Erregermenge

erkrankten. Neben den schon bei Lämmern beobachteten Symptomen zeigten sie zudem noch zentralnervöse Störungen und Festliegen. In der 1. Gruppe, die mit 50 000 Sporozysten infiziert worden war, brachten zwei Muttertiere 57 bzw. 65 Tage p.i. drei normal entwickelte, lebende Lämmer zur Welt. Das dritte Schaf abortierte 27 Tage p.i. und starb 33 Tage danach. Von den vier Mutterschafen der 2. Gruppe, die mit 100 000 Sporozysten infiziert worden waren, wurden zwei am 39. Tag p.i. in moribundem Zustand getötet. Sie enthielten drei Feten im Uterus, von denen zwei normal entwickelt, eines jedoch nekrotifiziert war. Das dritte Muttertier abortierte drei Feten am 125. Trächtigkeitstag (40. Tag p.i.), von denen ein Fetus nekrotifiziert war. Nach Ablauf der Trächtigkeitsdauer brachte das vierte Mutterschaf am 59. Tag p.i. zwei normal entwickelte tote Lämmer. In der 3. Gruppe (Infektionsdosis 500 000) starben alle vier Mutterschafe zwischen dem 27. und 30. Tag p.i. bzw. 112. - 115. Tag der Gravidität. Sie trugen insgesamt fünf normal entwickelte Feten im Uterus. Die 11 Mutterschafe hatten zwar 20 Feten, aber nur 3 kamen lebend und normal entwickelt zur Welt. Die durch künstliche Infektion mit Sporozysten von *Sarcocystis ovis* hervorgerufene Verlustrate betrug 85 %. In keinem Fall konnte histologisch eine kongenitale Übertragung des Parasiten nachgewiesen werden.

Die wirtschaftliche Bedeutung der Sarkosporidiose ist größer als weithin angenommen wird. MUNDAY (1977) sieht eine direkte negative Korrelation zwischen der Zystenkonzentration in der Muskulatur und der Gewichtszunahme künstlich infizierter Lämmer. Bei natürlich infizierten Schafen konnte diese Beziehung allerdings noch nicht bestätigt werden. An australischen Schlachthöfen wurden in der Zeit von 1967 - 1973 0,1 - 2,0 % der Schafe wegen dieser Parasitose beanstandet (MUNDAY, 1975). LEEK und FAYER (1978) berichteten, daß in den USA von 1971 - 1973 durch Beanstandungen von Rind- und Schafschlachtkörpern Verluste von

6,7 Millionen Dollar entstanden waren. In den Fleischbeschaubereichen wurde jedoch nicht klar zwischen Sarkosporidiose und eosinophiler Myositis getrennt.

Zahlreiche Autoren verschiedener Länder berichteten über das Vorkommen von Sarkosporidien bei Schafen. Anfangs waren die Untersuchungen ausschließlich makroskopisch oder mit dem Trichinoskop an Schlachttieren durchgeführt worden. Nach dem Zweiten Weltkrieg setzte sich zusätzlich das histologische Verfahren durch. Erst 1960 berichteten mehrere Autoren über das Vorkommen von Muskelzysten in Schlachttieren mit Hilfe serologischer Methoden (vor allem KBR und IFAT). In neuester Zeit wird versucht, mikroskopisch Zystozoitien aus Homogenaten oder nach Pepsinverdauung zu ermitteln.

Es gibt eine Reihe von Literaturangaben über das Vorkommen von Sarkosporidien bei Schafen in Deutschland (Tab. 1). Dabei fallen die relativ hohen Prozentzahlen (74 bis 100 %) sowohl bei der trichinoskopischen als auch bei der histologischen Untersuchung auf. Der Zoitennachweis wurde bisher lediglich von PIEKARSKI, SCHÄFER und NIEDERLÄNDER (1961), vergleichend mit der KBR, geführt.

In anderen europäischen Ländern stellten FIEBIGER (1947) in Ungarn bei 12 %, BERGMANN (1913) bei 28 % von 139 Tieren in Schweden, GROSCHAF (1962) bei 8,1 % von 3637 Schafen in der CSSR sowie AFSHAR, NAGHSHINEH und NESHAT (1975) im Iran bei 11,6 % der 6072 überprüften Tiere makroskopische Sarkosporidienzysten fest. Bei trichinoskopischen Untersuchungen erwiesen sich 98 von 100 Schafen in Österreich (FIEBIGER, 1947), 76 % der 139 Schafe und 28 % der 442 Lämmer in Schweden (BERGMANN, 1913) und 18 % der untersuchten Tiere in den Niederlanden (KRUIJF und BIBO, 1976) als Zystenträger. Histologische Untersuchungen führten MESHKOV (1973) in Bulgarien (97 % von 480 Schafen), AFSHAR, NAGHSHINEH und

Tab. 1: Vorkommen von Sarkosporidien bei Schafen in Deutschland (Literaturübersicht)

Autor	Untersuchte Schafe			Befallsrate in % und Nachweismethode				
	Anzahl	Alter	Schlachthof	Makro- skopie	Trichino- skopie	Histo- logie	Zeiteniso- lierung	Serologie
BERTRAM (1892)	185	Schafe Lämmer	Rostock		98,3 8			
NIEDEREHE (1948)	> 100	Schafe	Köln			100		
HÄCKER (1957)	100	Schafe	München			96		
NIEDEREHE und SEELE (1959)	65	Schafe	Witten	0	0	74		
PIEKARSKI, SCHÄFER und NIEDERLANDER (1961)	311 223	Schafe	Bonn/Köln	14,1			94,4	69,9 (KBR)
RETZLAFF und LUDWIG (1965)	542 112	Schafe Lämmer	Berlin		98,5 0	0		
BREUER (1966)	50	Schafe	Köln			100		

NESHAT (1975) im Iran (99,1 % von 6072 Tieren) und VEL' YAMINOV (1976) in Moskau (50 %) durch. Lediglich ASHFORD (1977) wandte die Pepsin-Verdauung an und konnte bei allen 100 Schafen Zysten nachweisen.

Auch in außereuropäischen Ländern wurden mit Hilfe der Verdauungsmethode Befallsprozentage von 97,7 und 75,3 in den USA (JACOBS, REMINGTON und MELTON, 1960; SENEVIRATNA, EDWARD und DE GIUSTI, 1975) sowie von 93,2 in Chile (ERNST, RABY und REBOLLEDO, 1977) ermittelt. Serologisch schließlich konnten in Australien MUNDAY (1975) mit der KBR bei 99,7 % sowie O'DONOGHUE und FORD (1977) mit dem IFAT bei 96,2 % der untersuchten Schafe Antikörper gegen Sarkosporidien nachweisen.

III. Eigene Untersuchungen

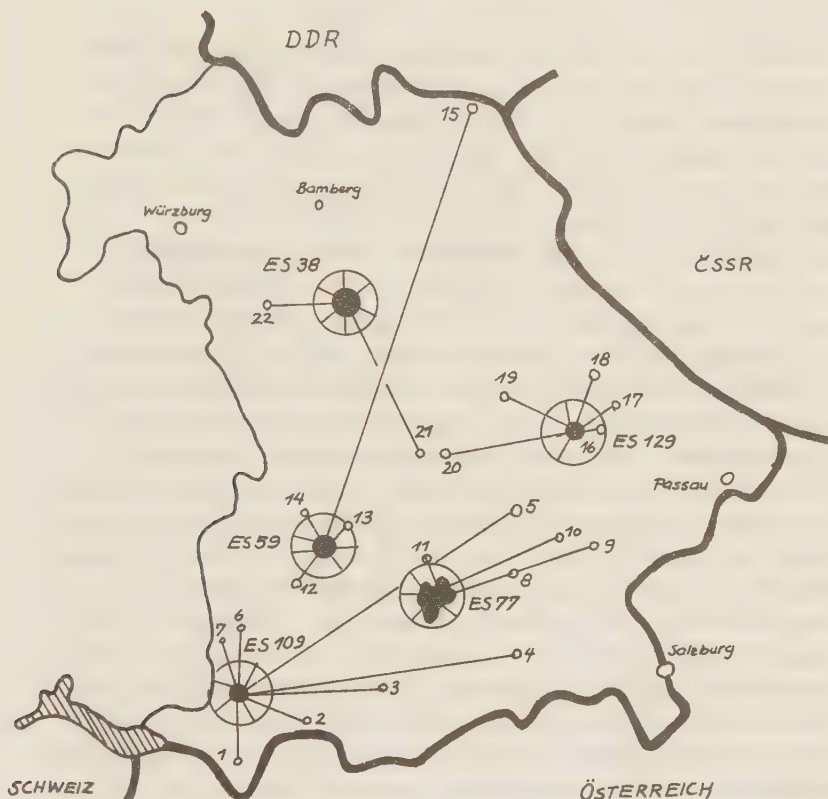
A) Material und Methoden

Das Untersuchungsmaterial stammte von 500 Schafen aus 5 verschiedenen süddeutschen EG-Schlachthöfen, deren Einzugsgebiet aus Abb. 1 zu ersehen ist. In der Zeit von Juni bis Oktober 1978 entnahm ich an den Schlachthöfen Augsburg, Kempten, München, Nürnberg und Straubing jeweils 3 Proben von Schlachtschafen. 1-2 Stunden nach Auftrieb der Schafe wurden diese entweder mit dem Bolzenschußgerät oder elektrisch betäubt und im Liegen oder Hängen aus den Halsgefäßen entblutet. Dabei gewann ich als erste Probe von jedem Tier ca. 10 ml Blut für die spätere serologische Untersuchung. Als Muskelproben entnahm ich jeweils die Hälfte der rechten und linken Zwerchfellplatte sowie den gesamten Schlund. Im Anschluß daran begutachtete ich den Tierkörper innen und außen und suchte nach makroskopisch sichtbaren Sarkosporidienzysten.

Bei den Tieren handelte es sich vorwiegend um 5-10 Monate alte "Deutsche Merinolandschafe" und "Deutsche Bergschafe", selten um "Schwarzköpfige Fleischschafe". Nur knapp ein Drittel der Tiere war älter als 1 Jahr; lediglich 3 Lämmer unter 3 Monaten befanden sich in meinem Untersuchungsgut. Die Muskelproben wurden am Entnahmetag oder an den unmittelbar darauffolgenden Tagen überprüft. Die gewonnenen Seren fror ich bei -20°C in 1 ml fassenden Plastikbechern am Entnahmetag ein und bewahrte sie bei dieser Temperatur bis zur Untersuchung auf.

Die makroskopische Untersuchung der Muskelproben erfolgte oberflächlich bei deren Entnahme, später sorgfältig bei der Vorbereitung für die Trichinoskopie. Nach Beseitigung seröser bzw. faszieller Anteile wurden Schlund- und Zwerchfellproben mit der flach angesetzten Schneide eines Fleischbeschaumessers überstrichen und so nach makroskopischen Muskelzysten abgesucht. Bei positivem Befund zählte ich die Zysten und hielt sie größenmäßig

Abb.1: 5 EG-Schlachthöfe mit Einzugsgebiet für Schafe in Süddeutschland



- ES 59 = Augsburg
- ES 109 = Kempten
- ES 77 = München
- ES 38 = Nürnberg
- ES 129 = Straubing

— 25 km

1 Oberstdorf, 2 Füssen, 3 Murnau, 4 Rosenheim, 5 Landshut, 6 Erkheim, 7 Memmingen, 8 Dorfen, 9 Eggenfelden, 10 Vilsbiburg, 11 Eching, 12 Schwabmünchen, 13 Gersthofen, 14 Nordendorf, 15 Hof (Saale), 16 Bogen, 17 Ruhmannsfelden, 18 Viechtach, 19 Nittendorf (Regensbg.), 20 Vohburg (Ingolstadt), 21 Ingolstadt, 22 Bad Windsheim (Neustadt)



stadtnaher Einzugsbereich

im Versuchsprotokoll fest. Aus den Zysten von 2 sehr stark befallenen Schlünden wurde Antigen für die serologischen Untersuchungen gewonnen.

Von Schlund- bzw. Zwerchfellmuskulatur wurden jeweils 7 haferkorngroße Proben für den trichinoskopischen Nachweis der Zysten entnommen. Die Kompressorien durchmusterte ich mit einem Leitz-Trichinoskop (Leitz, IX,q) bei 40-facher, im Verdachtsfall bei 80-facher Vergrößerung nach Sarkosporidienzysten. Die Gesamtzahl der positiven Felder einer Probe und die in diesen Feldern ermittelte Gesamtzystenzahl wurde protokolliert.

Nach unbefriedigenden Vorversuchen mit Pepsin hatte ERBER (1977) die in der Mikrobiologie eingeführte Trypsinverdauungsmethode zum ersten Mal erfolgreich auch zum Nachweis von Zystozoiten (Merozoiten) angewandt. In der Folgezeit hat sich diese Methode in zahlreichen Untersuchungsreihen bewährt und wurde deshalb auch in meiner Arbeit benutzt. Jeweils 10 g der Schlund- und Zwerchfellmuskulatur zerkleinerte ich mit einem Fleischbeschau-messer zu Würfeln mit 3 mm Kantenlänge und füllte das Material in einen 250 ml fassenden Erlenmeyer-Kolben. Jedem Kolben wurden 40 ml Trypsinlösung (DIFCO-Nr. 0152-15, in Phosphatpufferlösung, PBS pH 7,4) und ein 30 mm langer Magnetrührstab zugesetzt. Ein Magnetrührer bewegte den Ansatz langsam (ca. 1 U/sec) 30 Minuten lang bei + 22° C. Durch dieses Trypsinieren konnten sowohl Muskelfasern und Zellkerne als auch Zystenwüllen aufgelöst und die Zystozoiten freigesetzt werden. Die so behandelte Probe passierte ich durch ein Plastiksieb (Maschenweite 600 µm) in ein Zentrifugenglas und zentrifugierte dann 5 Minuten lang bei ca. 800 x g. Nach Absaugen des Überstandes mit einer Wasserstrahlpumpe wurde das Sediment mit einigen Tropfen NaCl-Lösung (0,9 %) verdünnt und mit einer Pasteurpipette gut durchmischt. Mit 1 Tropfen dieser Mischung fertigte ich ein Deckglaspräparat (18 x 18 mm) an und durchmusterte es bei 400-facher Vergrößerung einmal in Längsrichtung.

Die Menge der Zystozoiten bewertete ich nach folgendem Schema:

- = negativer Befund
- + = bis 3 Zystozoiten im Präparat
(vereinzelter Befall)
- ++ = mehr als 3 Zystozoiten im Präparat
(geringgradiger Befall)
- +++ = in jedem Blickfeld bis zu 10 Zystozoiten
(mittelgradiger Befall)
- ++++ = in jedem Blickfeld mehr als 10 Zystozoiten
(hochgradiger Befall)

Zur Zystendifferenzierung wurde das analog der Trypsinmethode zerkleinerte Fleisch zu jeweils 10 g mit 40 ml physiologischer Kochsalzlösung und 15 Glasperlen (ϕ 4,0 mm) in einen 250 ml fassenden Erlenmeyer-Kolben eingefüllt und mit einem Gummipfropfen verschlossen (ERBER, 1977). Den Inhalt schüttelte ich per Hand mit gleichmäßig schnellen und kräftigen Bewegungen aus. Durch diese Manipulation sollten sich möglichst viele Zysten aus den befallenen Muskelfibrillen lösen. Das so behandelte Material goß ich durch ein Plastiksieb (Maschenweite 600 μ m) in ein Zentrifugenglas und zentrifugierte 5 Minuten bei ca. 800 x g. Das nach Absaugen der überstehenden Flüssigkeit verbliebene Sediment wurde wieder mit 0,9 %iger Kochsalzlösung leicht verdünnt und mit einer Pasteurpipette gut durchgemischt. Von 3 Tropfen dieser Mischung fertigte ich ein Deckglaspräparat (24 x 48 mm) an, welches ich mit 40-facher Vergrößerung mäanderförmig nach Zysten bzw. Zystenbruchstücken absuchte. Zur Artendifferenzierung benutzte ich 160- oder 400-fache, im Bedarfsfalle 1000 (Öl) -fache Vergrößerung.

Der serologische Nachweis von Sarkosporidien beim Schaf erfolgte mit dem Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay (ELISA), der von ENGVALL und PERLMANN (1972) entwickelt worden war.

BIDWELL und Mitarb. (1976) sowie VOLLER, BARTLETT und BIDWELL (1976) berichteten von der Anwendung dieser Methode zum Nachweis verschiedener Parasitosen. Der ELISA war zum Nachweis von Sarkosporidiosen von KLIMA (1979) erarbeitet worden. Von mir wurde seine Brauchbarkeit bei Schafen erstmals erprobt. Zur Verfügung standen 476 Seren von den 500 untersuchten Schafen.

Die Durchführung des Tests erfolgte in der von KLIMA (1979) beschriebenen Form. Zunächst wurde in zwei Vorversuchen die günstigste Konjugatverdünnung ermittelt. Hierfür benutzte ich unbehandeltes und einmal bei + 56° C inaktiviertes Serum. Als ideale Gebrauchsverdünnung erwies sich 1 : 1000. Inaktivierte Seren brachten keinen sichtbaren Vorteil gegenüber unbehandelten bei der Beurteilung der Farbreaktionen. Als Negativkontrollen dienten Seren zweier 4 1/2 Wochen alter Zwillingslämmer aus einem geschlossenen Stall des Instituts sowie die Seren zweier Schlachtschafe, welche sich bei der Trypsinmethode als parasitologisch negativ erwiesen hatten. Als Positivkontrolle zog ich analog zwei parasitologisch 4-fach positive Schafseren heran.

B) Ergebnisse

Nur an den Schlachthöfen Augsburg, Kempten, München, Nürnberg und Straubing wurden, soweit ich erfahren konnte, an den jeweiligen Hauptschlachttagen mehr als 30 Schafe geschlachtet. Für die Überlassung des Materials und für die mir gewährte Unterstützung danke ich herzlich den Direktoren dieser Betriebe.

1. Nachweis von Sarkosporidien mit unterschiedlichen Methoden

a) Trypsinverdauung

Von den 500 untersuchten Schafen aus Süddeutschland waren 85,4 % mit Sarkosporidien befallen. Für die einzelnen Schlachthöfe lag der Prozentsatz zwischen 69,2 und 99,1 %. In Augsburg waren von 115 Schafen 99,1 %, in Nürnberg von 90 Schafen 94,4 %, in Kempten von 52 Schafen 69,2 % und in Straubing von 110 Schafen 72,7 % infiziert. In München fand ich Sarkosporidien bei 84,2 % von 133 Tierkörpern (Tab. 2).

Tab. 2: Stärke des Sarkosporidienbefalls bei Schafen in Süddeutschland (ermittelt mit der Trypsinverdauungsmethode)

Schlachthof	Anzahl der untersuchten Schafe	Anzahl der positiven Tiere (%)	Befallsstärke in % der positiven Tiere			
			+	++	+++	++++
Augsburg	115	114 (99,1)	7,0	9,6	52,6	30,7
Kempten	52	36 (69,2)	33,3	19,4	47,2	0
München	133	112 (84,2)	16,1	9,8	54,5	19,6
Nürnberg	90	85 (94,4)	5,9	14,1	63,5	16,5
Straubing	110	80 (72,7)	30	23,8	41,3	5
	500	427 (85,4)	15,7	14,1	52,7	17,6

+ = vereinzelter Befall, ++ = geringgradiger Befall,
+++ = mittelgradiger Befall, ++++ = hochgradiger Befall

Über die Hälfte aller Schafe (52,7 %) war mittelgradig, der Rest zu je etwa 15 % vereinzelt, geringgradig oder hochgradig befallen. Auch in der Stärke des Befalls lagen die Tiere aus Augsburg, Nürnberg und München an der Spitze. In Augsburg war sie bei etwa der Hälfte (52,6 %) der 114 positiven Tiere mittelgradig und weiterhin bei ca. einem Drittel der Schafe (30,7 %) hochgradig. Entsprechende Werte für 85 positive Schafe aus Nürnberg ergaben 63,5 und 16,5 %. Mehr als die Hälfte (54,5 %) der 112 aus München stammenden infizierten Tiere zeigte mittelgradigen und knapp 20 % hochgradigen Befall mit Zysten bzw. Zystozoiten (Abb. 2).

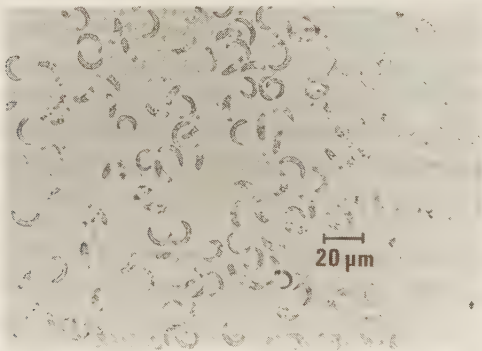


Abb. 2: Sarkosporidien-Zystozoiten aus Schlundmuskulatur eines Schafes nach Trypsinverdauung (Deckglaspräparat)

Weniger als die Hälfte (47,2 bzw. 41,3 %) der 36 bzw. 80 positiven Schafe aus Kempten und Straubing waren mittelgradig parasitiert. Hochgradigen Befall mit Sarkosporidien fand ich in Kempten überhaupt nicht und in Straubing nur bei 5 % der infizierten Tiere.

b) Zystenisolierung

Von den insgesamt 500 Schafen war bei 336 der Nachweis von Zysten möglich. Das entspricht 67,2 % aller Tiere. Augsburg, Nürnberg und

München lagen mit Prozentsätzen von 86,1, 85,6 und 80,9 wieder weit vorn, Straubing und Kempten folgten mit 48 und 32,7 % (Tab. 3).

c) Trichinoskopie

Mit dem Trichinoskop konnten bei 166 der 500 untersuchten Schafe Zysten nachgewiesen werden; dies entspricht einem Prozentsatz von 33,2. Die 115 Schafe aus Augsburg erwiesen sich zu 59,1 % als Zysten-träger. Weit weniger Zysten fand ich bei den 133 Tieren aus München (32,3 %) und bei den 90 aus Nürnberg (36,7 %). Den geringsten Sarkosporidienbefall stellte ich mit dieser Methode bei Schafen aus Kempten (11,5 %) und Straubing (14,5 %) fest. (Tab. 3)

Die meisten Zysten pro Kompressorium beobachtete ich bei Schafen aus München, Augsburg und Nürnberg. So lag in München die durchschnittliche Zysten-zahl je Quetschpräparat bei 10, sie erreichte aber auch mehrmals Maximalwerte von über 100. Bei Schafen aus Augsburg zählte ich pro Tier mit dem Trichinoskop im Mittel 7, maximal 40 Zysten aus. Entsprechende Werte für Tiere aus Nürnberg waren 5 bzw. 20 Zysten. Die Präparate der Schafe aus Kempten und Straubing wiesen durchschnittlich nur 1-2, höchstens 10 Zysten auf.

d) Makroskopie

Lediglich 2,6 % aller untersuchten Schlachttiere hatten makroskopisch sichtbare Zysten (Abb. 3). In Schafen aus Kempten, Straubing und Nürnberg konnte ich nie makroskopisch sichtbare Zysten feststellen. Dagegen fand ich diese bei 3,5 % der untersuchten Tiere aus Augsburg und bei 6,8 % der Schafe aus München (Tab. 3). Makroskopische Zysten traf ich fast ausschließlich in der Schlundmuskulatur an, die sich auch bei der Trypsinverdauung durchwegs als hochgradig befallen erwies. Pro Schlund konnte ich minimal 7, maximal über 30 Zysten zählen. Ihre Länge betrug 1-15 mm, ihr Durchmesser lag zwischen 0,5 und 6 mm.

Tab. 3: Vorkommen von Sarkosporidien bei Schafen in Süddeutschland (ermittelt mit verschiedenen Untersuchungsmethoden)

Schlachthof	Anzahl unter-suchter Schafe	Nachweis von					
		Zystozoiten		durch Isolierung		Zysten durch Trichinoskopie	
		Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%
Augsburg	115	114	99,1	99	86,1	68	59,1
Kempten	52	36	69,2	17	32,7	6	11,5
München	133	112	84,2	95	80,9	43	32,3
Nürnberg	90	85	94,4	77	85,6	33	36,7
Straubing	110	80	72,7	48	43,6	16	14,5
	500	427	85,4	336	67,2	166	33,2
						13	2,6

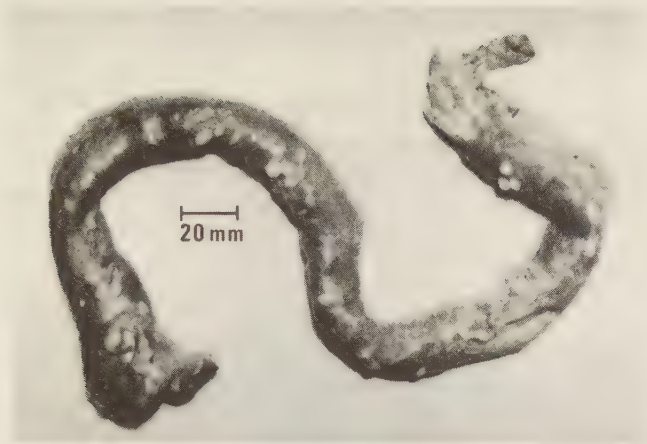


Abb. 3: Schafschlund mit bereits makroskopisch sichtbaren Sarkosporidienzysten von *S. tenella*

Bei einem der Schafe aus Augsburg, dessen Schlund 30 bis zu 15 x 6 mm große Zysten enthielt, war die gesamte oberflächliche Rumpfmuskulatur dicht mit reiskorngroßen Zysten durchsetzt. Als Nebenbefund entdeckte ich bei der Adspektion der Schlachtkörper in Augsburg bei ca. $\frac{1}{3}$ der Tiere im Gekröse und in den Leberbändern bis zu kastaniengroße Finnenstadien (*Cysticercus tenuicollis*) des Hundebandwurms *Taenia hydatigena*. Dagegen konnte ich in Straubing relativ oft große Leberegel (*Fasciola hepatica*) feststellen.

2. Differenzierung der beiden beim Schaf vorkommenden Sarkosporidienarten

Um den Anteil der beiden *Sarcocystis*arten an den ermittelten Sarkosporidieninfektionen feststellen zu können, führte ich eine Differenzierung anhand der Zystenwandvorwölbungen durch. Mikroskopische Zysten mit relativ kurzen, fingerförmigen, stabilen Vorwölbungen werden von *Sarcocystis ovicanis* gebildet (Abb. 4).



Abb. 4: Reife Zyste von *Sarcocystis ovicanis*

Mikroskopische Zysten mit längeren, haarartigen, labilen Vorwölbungen stufte ich als *Sarcocystis spec.* ein (Abb. 5).

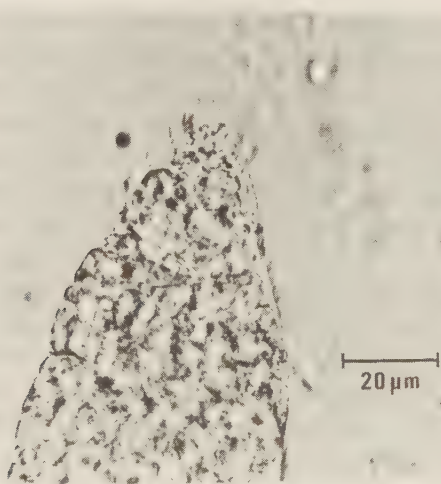


Abb. 5: Reife Zyste von *Sarcocystis spec.*

Je 50 der so differenzierten mikroskopischen Zysten von *Sarcocystis ovicanis* und *Sarcocystis spec.* habe ich mit 1000-facher Vergrößerung gemessen. Bei den nachfolgenden Angaben bedeuten die Zahlen in Klammern den Mittelwert sowie die Standardabweichung. Für *S. ovicanis* ermittelte ich Zystenlängen von 20 - 580 µm. Die Breite der Zysten, an der weitesten Stelle gemessen, betrug 14 - 60 µm. Aus beiden Angaben errechnete ich ein Verhältnis zwischen Länge und Breite von 3,3 : 1 bis 14 : 1. Die Vorwölbungen der Zystenwand waren 2 - 4 µm ($2,9 \pm 0,4$ µm) lang, während deren Breite 0,6 - 0,9 µm ($0,76 \pm 0,08$ µm) betrug. Für die Längen von mikroskopischen *Sarcocystis spec.*-Zysten fand ich Werte von 240 - 2020 µm. Die Breiten lagen bei 20 - 300 µm. Das Verhältnis zwischen Länge und Breite war 2,6 : 1 bis 30 : 1. Die Längenwerte für die Vorwölbungen der Zysten lagen zwischen

5 und 11 μ m ($7,5 \pm 1,4 \mu$ m). Die Breite der Vorwölbungen war unterhalb des Meßbereiches des Mikroskopes. Man kann sie lediglich mit $< 0,5 \mu$ m angeben.

Die mikroskopische Differenzierung der Zysten ergab, daß von den befallenen Tieren 63,9 % mit *Sarcocystis ovicanis* und 84,8 % mit *Sarcocystis spec.* infiziert waren (Tab. 4). Während das Prozentverhältnis *S. ovicanis* zu *S. spec.* in Augsburg relativ ausgeglichen (77,8 : 84,8) war, in München bei 66,3 : 92,6, in Straubing bei 58,3 : 89,6 und in Nürnberg schon bei 44,2 : 81,8 lag, waren in Kempten umgekehrt weit mehr Schafe mit *Sarcocystis ovicanis* als mit *Sarcocystis spec.* befallen (76,5 : 41,2).

Monoinfektionen (Tab. 4) mit *S. ovicanis* fand ich bei 10,7 % und mit *S. spec.* bei 33,6 % der parasitierten Schafe. In Nürnberg und Straubing lagen sie für *S. ovicanis* bei 9,1 und 8,3 %, während sie für *S. spec.* 53,2 und 43,8 % betrugen. Die befallenen Tiere aus München waren zu 7,4 % rein mit *S. ovicanis* und um das 4 1/2-fache (33,7 %) mit *S. spec.* infiziert.

Bei 55,6 % von 336 parasitierten Tieren konnte ich Mischinfektionen feststellen (Tab. 4). Für Augsburg war der Prozentsatz 76,8 von 99 befallenen Tieren, für München lag der Wert bei 58,9 % von 95 Schafen, die sich als Parasitenträger erwiesen hatten. Von den 77 positiven Tieren aus Nürnberg hatten 37,7 % und von den 48 Tieren des Straubinger Schlachthofes 47,9 % Mischinfektionen.

Tab. 4: Vorkommen von Sarcocystis ovis und Sarcocystis spec. bei Schafen in Süddeutschland

Schlachthof	Anzahl der untersuchten Tiere	Zysten- isolierung bei ... Tieren	Differenzierung				Monoinfektionen mit				Mischinfek- tionen	
			S. ovis Anzahl	S. ovis %	S. spec. Anzahl	S. spec. %	S. ovis Anzahl	S. ovis %	S. spec. Anzahl	S. spec. %	S. ovis + S. spec. Anzahl	%
Augsburg	115	99	77	77,8	84	84,8	8	8,1	15	15,2	76	76,8
Kempten	52	17	13	76,5	7	41,2	10	58,8	4	23,5	3	17,6
München	133	95	63	66,3	88	92,6	7	7,4	32	33,7	56	58,9
Nürnberg	90	77	34	44,2	63	81,8	7	9,1	41	53,2	29	37,7
Straubing	110	48	28	58,3	43	89,6	4	8,3	21	43,8	23	47,9
	500	336	215	63,9	285	84,8	36	10,7	113	33,6	187	55,6

3. Vergleich von Schlund und Zwerchfell beim Nachweis von Sarkosporidien

Mit der Trypsinmethode erwiesen sich die Schlünde von 500 Schafen zu 80,4 % sarkosporidienhaltig. Die Zwerchfellproben waren um 2,7 % mehr befallen. Aus 53,2 % der Schlünde konnten Zysten isoliert werden, während mir im Zwerchfell der Nachweis bei 63,3 % aller Tiere gelang. Trichinoskopisch fand ich bei 25,9 % der Schlünde und bei 29,8 % der Zwerchfellpräparate Zysten. Makroskopisch sichtbare Zysten waren lediglich in 10 Schlund- sowie in 6 Zwerchfellproben festzustellen. Damit erwies sich das Zwerchfell im Vergleich mit dem Schlund als etwas häufiger infiziert. Jedoch war der Befall nicht bei allen parasitierten Tieren im Zwerchfell nachweisbar.

4. Serologische Untersuchung von Schafseren auf Sarkosporidien-Antikörper mit dem ELISA

461 Seren und 3 Kontrollseren wurden mit dem ELISA auf Antikörper gegen Sarkosporidien getestet. Ein als Positivkontrolle verwendetes Schafserum, welches bei der Trypsinverdauung 4-fach positiv war, lief durch den gesamten Versuch mit einem Titer von 1 : 512. Seren von zwei 5 Wochen alten Lämmern (Negativkontrolle) brachten durchwegs Titer von 1 : 16 bzw. 1 : 32. Bei allen 461 untersuchten Seren ließen sich Titer ermitteln, die zwischen 1 : 16 und 1 : 1024 lagen (Tab. 5). Es war also auch bei den 67 parasitologisch negativen Tieren eine positive serologische Reaktion abzulesen. Zwei Drittel aller Seren (sowohl von parasitologisch positiven wie negativen Tieren) zeigten Titer von 1 : 32 oder 1 : 64. Hohe Titer (1 : 512 - 1 : 1024) traten nur bei 3 Schafen auf, bei denen mikroskopisch ein mittel- bis hochgradiger Sarkosporidienbefall festgestellt worden war.

Tab. 5: Sarkosporidien-Antikörpertiter in Seren vom 394 parasitologisch positiven und 67 parasitologisch negativen Schlachtschafen im ELISA

Titer- höhe	Anzahl der Tiere		
	untersucht	parasito- logisch positiv	parasito- logisch negativ
1:16	76	59	17
1:32	139	118	21
1:64	162	142	20
1:128	65	57	8
1:256	16	15	1
1:512	1	1	0
1:1024	2	2	0
	461	394	67

IV. Besprechung der Ergebnisse

Meine Untersuchungen an 500 Schlachtschafen aus verschiedenen Gebieten Süddeutschlands ergaben einen hohen Befall mit Sarkosporidien von 85,4 %. Entsprechende Angaben über Rinder (BOCH, LAUPHEIMER und ERBER, 1978) sind noch höher (99,7 %). Mastschweine waren nur zu 9,7 % Parasitenträger (BOCH, MANNEWITZ und ERBER, 1978).

Vergleicht man die verschiedenen zum Nachweis von Sarkosporidien bei Schafen angewandten Verfahren, so stellte sich die Trypsinverdauungsmethode als zuverlässigstes heraus. Selbst bei sehr schwachem Befall, bei dem alle anderen Nachweisverfahren negative Ergebnisse lieferten, brachte sie oft positive Befunde. Die Isolierung der Zysten, die mir nur an 67,2 % der Tiere gelang, war verständlicherweise weit weniger effektiv; denn das Trypsinverdauungsverfahren stellt gegenüber der Homogenatmethode eine starke Anreicherung dar. Eine niedrigere Effektivität war auch in den oben zitierten Angaben über Rinder und Schweine festzustellen. Die Trichinoskopie erfaßte lediglich 33,2 % der untersuchten Tiere. Das entspricht 38,9 % der befallenen Tiere. Bei infizierten Rindern und Schweinen wurden im Vergleich dazu Prozente von 58,1 bzw. 24,2 ermittelt. Dies Verfahren erfaßt also noch weniger Parasitenträger, als durch die Homogenatmethode nachgewiesen werden können. Es war eine direkte Korrelation zwischen der mit der Trypsinmethode festgestellten Befallsstärke und den trichinoskopischen Ergebnissen zu erkennen. Bei vereinzeltem Befall konnten im Quetschpräparat nie, bei mittel- bis hochgradigem Befall in ca. 80 % der Präparate Zysten gefunden werden. Auf einem derartig starken Befall beruhen sicherlich auch die trichinoskopischen Befunde von BERTRAM (1892), BERGMANN (1913) und FIEBIGER (1947), die mit 76 % und jeweils 90 % angegeben werden. Im Schlund und Zwerchfell von Schafen, die sich bei der Trypsinverdauungsmethode als negativ erwiesen hatten, konnten trichinoskopisch niemals Zysten gefunden werden.

Makroskopisch sichtbare Zysten fand ich nur bei 2,6 % aller Schafe. Diese Tiere waren stets auch hochgradig mit mikroskopischen Formen befallen. Vielleicht bilden sich Makrozysten doch erst nach länger bestehender Infektionsdauer. Die von mir untersuchten Schafe waren jedoch meist jünger als 1 Jahr.

Erstmals wurde bei natürlich infizierten Schlachtschafen eine Differenzierung der beiden mikroskopischen *Sarcocystis*-Arten durchgeführt. Dabei ergab sich, wenn man die Ergebnisse nicht auf infizierte, sondern auf alle untersuchten Schafe bezieht, ein Befall von 43 % mit *Sarcocystis ovicanis* und von 57 % mit *Sarcocystis spec.*. Entsprechend fand ich 7,2 % Monoinfektionen mit *S. ovicanis* und 22,6 % mit *S. spec.* sowie 31,7 % Mischinfektionen bei allen untersuchten Tieren. Diese Ergebnisse würden sich noch mehr zu Gunsten der Spezies *S. spec.* verschieben, wenn man Kempton ausklammerte. Hier waren nämlich weit mehr Schafe mit der Sarkosporidienart *S. ovicanis* als mit *S. spec.* befallen. Während über die Pathogenität von *Sarcocystis spec.* für Schafe nichts bekannt ist, *Sarcocystis ovifelis* im allgemeinen keine Erkrankungen hervorruft, kann *Sarcocystis ovicanis* aufgrund seiner dosisabhängigen Pathogenität zu erheblichen Schäden (Tod, Aborte, Beanstandungen bei der Fleischschau) führen (HEYDORN und GESTRICH, 1976; LEEK, FAYER und JOHNSON, 1977; LEEK und FAYER, 1978; MUNDAY, 1975; MUNDAY, 1977).

Die zwei beim Schaf vorgefundenen mikroskopischen Sarkosporidienzysten differenzierte ich aufgrund der unterschiedlich ausgebildeten Vorwölbungen der Zystenwand. Die Vorwölbungen der von mir als *S. ovicanis* eingestuften Zysten waren relativ kurz, fingerförmig und stabil. Die an 50 Zysten ausgemessene Länge betrug $2,9 \pm 0,4 \mu\text{m}$, die Breite $0,76 \pm 0,08 \mu\text{m}$. Diese Werte entsprechen den von MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH (1975) bei experimentell infizierten Schafen ermittelten Ergebnissen. Dagegen gibt es für die von mir als *S. spec.* bezeichnete mikroskopische Zyste, deren Vorwölbungen lang, haarartig und labil sind ($7,5 \pm 1,4 \times < 0,5 \mu\text{m}$), keine experimentellen Befunde in der Literatur. Lediglich

BERGMANN und KINDER (1975) fanden bei Untersuchungen an natürlich infizierten Schafen neben *S. ovis*-Zysten einen zweiten mikroskopischen Zystentyp, der meinem als *S. spec.* bezeichneten entspricht. Da jedoch für die Sarkosporidien des Schafes nur Hund und Katze als Endwirte ermittelt wurden und sich der zweite mikroskopische Zystentyp eindeutig von *S. ovis* unterscheidet, bezeichne ich ihn in dieser Arbeit als *Sarcocystis spec.*

Die serologische Untersuchung von 461 der 500 parasitologisch überprüften Schlachtschafe stellt lediglich eine erste orientierende Anwendung des ELISA zur Feststellung von Sarkosporidieninfektionen beim Schaf dar. Eine große Aussagekraft haben diese vergleichend zu den parasitologischen Ergebnissen durchgeführten Untersuchungen nicht, da alle Seren, also auch solche von parasitologisch negativen Tieren Titer aufwiesen. Die Titerhöhen schwankten zwischen 1 : 16 und 1 : 256; nur 3 Tiere hatten Titer über 1 : 256.

Daß bei 67 Tieren trotz fehlenden Parasitennachweises Titer verschiedener Höhen auftraten, ist eventuell auf frische Infektionen zurückzuführen. Nach Freiwerden der in den Sporozysten aufgenommenen Sporozoiten kommt es zu einer meist zweimaligen ungeschlechtlichen Vermehrung (Schizogonie) in verschiedenen Organen. Diese Schizonten und Merozoiten stimulieren die Bildung humoraler Antikörper. Mit den von mir verwendeten Verfahren lassen sich Parasiten (Zystozoiten) erst später (40 Tage p.i., nach HEYDORN und GESTRICH, 1976) nachweisen, wenn Zysten sich entwickeln.

Andererseits stellte ich bei Schlachtschafen, die einen hochgradigen Sarkosporidienbefall hatten, nur niedere Titer mit dem ELISA fest. Vielleicht waren dies alte Infektionen mit ganz reifen

Zysten, deren vermindelter Stoffwechsel nur noch eine geringe antigene Wirkung auslöste. Auch können individuelle Gründe (gute und schlechte Antikörperbildner) diese niederen Titer verursacht haben. Nur in wenigen Fällen entsprachen die Titerhöhen auch der mikroskopisch festgestellten Parasitenbefallsstärke.

Vergleiche mit den von MUNDAY (1975) und von PIEKARSKI, SCHÄFER und NIEDERLÄNDER (1961) mit Hilfe der KBR sowie von O'DONOGHUE und FORD (1977) mit dem IFAT bei Schafen erhobenen Titerwerten lassen meine lediglich orientierenden Untersuchungen nicht zu, da Titerverlaufskurven bei experimentell infizierten Schafen bisher für keinen der drei unterschiedlichen serologischen Tests vorliegen. Die Serologie der Schafsarkosporidien bedarf weiterer intensiver Forschungsarbeit.

V. Zusammenfassung

An 5 süddeutschen Schlachthöfen wurden von 500 Schafen unterschiedlichen Alters und beiderlei Geschlechts je eine Muskelprobe von Schlund und Zwerchfell entnommen und mit verschiedenen Verfahren auf Sarkosporidien untersucht.

Mit Hilfe der Trypsinverdauung konnten bei 427 Tieren (85,4 %), mit der Trichinoskopie bei 166 (33,2 %), makroskopisch bei 13 Tieren (2,6 %) Sarkosporidien festgestellt werden. Bei 336 Tieren (67,2 %) gelang die Isolierung von Zysten mit dem Homogenatverfahren. Damit konnte gleichzeitig eine Differenzierung der beim Schaf vorkommenden 2 mikroskopischen Sarkosporidienspezies durchgeführt werden.

S. ovis konnte ich bei 63,9 %, *S. spec.* bei 84,8 % der befallenen Schafe nachweisen. 37,4 % der infizierten Tiere hatten Mischinfektionen.

Bei orientierenden serologischen Untersuchungen (ELISA), unter Verwendung eines *S. tenella*-Zystozoiten-Antigens, stellte ich bei allen 461 Seren Titer (1 : 16 - 1 : 1024) fest.

Bierschenck, Archibald: The incidence of sarcosporidia in slaughter sheep in Southern Germany

Summary

Muscle samples of the oesophagus and the diaphragm from 500 sheep of both sexes and of various ages were collected from 5 slaughterhouses in Southern Germany and examined by different methods for the existence of sarcosporidia.

Sarcosporidia could be identified in 427 (85,4 %) animals by means of tryptic digestion, while the trichinoscopic and macroscopic examination yielded positive results in 166 (33,2 %) and 13 (2,6 %) of the sheep respectively. Cysts could be isolated by means of homogenisation in the cases of 336 (67,2 %) animals.

A differentiation of the two microscopical species of sarcosporidia in sheep revealed infections with *Sarcocystis ovicanis* and *Sarcocystis spec.* in 63,9 % and 84,8 % of the positive sheep respectively. 37,4 % of the animals showing positive results had mixed infections.

Titres of 1 : 16 - 1 : 1024 were observed by tentative serological tests (ELISA) using a *Sarcocystis tenella*-cystozoite-antigen.

VI. Literaturverzeichnis

- Afshar, A., R. Naghshineh, H. Neshat (1975): Incidence of sarcosporidiosis in sheep in Iran. Trop. Anim. Hlth 6, 192
- Ashford, R.W. (1977): The fox, *Vulpes vulpes*, as a final host for *Sarcocystis* of sheep. Ann. trop. Med. Parasitol. 71, 29-34
- Balbani, C. (1882): Les Sporozoaires. J. Micrograph. Paris 6, 80-89
- Bergmann, A.M. (1913): Beitrag zur Kenntnis des Vorkommens der Sarkosporidien bei den Haustieren. Z. Fleisch-Milchhyg. 23, 169-180
- Bergmann, V., E. Kinder (1975): Unterschiede in der Struktur der Zystenwand bei Sarkozysten des Schafes. Mh. Vetmed. 30, 772-774
- Bertram, A. (1892): Beiträge zur Kenntnis der Sarkosporidien nebst einem Anhang über parasitische Schläuche in der Leibesöhle von Rotatorien. Zool. Jahrb., Abt. Anat. 5, 581-604
- Bidwell, D.E., A.A. Buck, H.J. Diesfeld, B. Enders, J. Haworth, G. Hulett, N.H. Kent, C. Kirsten, P. Mattern, E.J. Ruitenberg, A. Voller (1976): The Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay (ELISA). Bull. WHO 54, 129-139
- Boch, J., K.E. Laupheimer, M. Erber (1978): Drei Sarkosporidienarten bei Schlachtrindern in Süddeutschland. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 91, 426-431
- Boch, J., U. Mannewitz, M. Erber (1978): Sarkosporidien bei Schlachtschweinen in Süddeutschland. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 91, 106-111
- Breuer, H.J. (1966): Untersuchungsergebnisse über das Vorkommen von Sarkosporidien bei Rindern, Schafen und Schweinen und deren fleischhygienische Bedeutung. Schlacht-, Viehhztg 66, 119-120
- Christie, E., J.P. Dubey, P.W. Pappas (1976): Prevalence of *Sarcocystis* infection and other intestinal parasitisms in cats from a human shelter in Ohio. J. Amer. vet. med. Ass. 168, 421-422
- Collins, G.H., W.A.G. Charleston, K.M. Moriarty (1976): *Sarcocystis* species in sheep (Correspondence). New Zealand vet. J. 24, 123-124
- Creech, G.T. (1922): Sarcosporidiosis of swine, associated with advanced degenerative changes in the musculature. J. Am. vet. med. Ass. 61, 383-392

- Dubey, J.P., R.H. Streitl (1976): Shedding of Sarcocystis in feces of dogs and cats fed muscles of naturally infected food animals in the midwestern United States. J. Parasitol. 62, 828-830
- Engvall, E., P. Perlmann (1972): Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay (ELISA). III. Quantitation of spezific antibodies by enzymelabeled anti-immunoglobulin in antigencoated tubes. J. Immunol. 109, 129-135
- Erber, M. (1977): Möglichkeiten des Nachweises und der Differenzierung von 2 Sarcocystisarten des Schweines. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 90, 480-482
- Ernst, S., J. Raby, C. Rebolledo (1977): Incidencia de sarcosporidios ovina en la provincia de Valdivia, Chile. Bol. Chil. Parasitol. 32, 81-83
- Farmer, J.N., I.V. Herbert, M. Patridge, G.T. Edwards (1978): The prevalence of Sarcocystis spp. in dogs and red foxes. Vet. Rec. 102, 78-80
- Fiebiger, J. (1947): Die tierischen Parasiten der Haus- und Nutztiere sowie des Menschen. 4. Aufl. Verlag Urban und Schwarzenberg, Wien
- Gestrich, R., M. Schmitt, A.-O. Heydorn (1974): Pathogenität von Sarcocystis tenella-Sporozysten aus den Fäzes von Hunden für Lämmer. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 87, 362-363
- Gestrich, R., A.-O. Heydorn, N. Baysu (1975): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. VI. Untersuchungen zur Artendifferenzierung bei S. fusiformis und S. tenella. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 88, 191-197 und 201-204
- Groschaft, J. (1962): Oesophagus-Parasiten der Schafe und Rinder in der CSSR. Ceskosl. Parasitol. 9, 231-238
- Häcker, K.-A. (1957): Die Beziehungen des Toxoplasmosetestes nach Sabin und Feldman zum Sarkosporidienbefall bei Schaf und Rind. Vet. med. Diss., München
- Hessling, T.V. (1854): Histologische Mitteilungen. Z.wissensch. Zool. 5, 189-199

- Heydorn, A.-O., Gestrich, H. Mehlhorn, M. Rommel (1975):
Proposal for a new nomenclature of the sarcosporidia.
Z. Parasitenk. 48, 73-82
- Heydorn, A.-O., R. Gestrich (1976): Beiträge zum Lebens-
zyklus der Sarkosporidien. VII. Entwicklungsstadien
von Sarcocystis ovis im Schaf. Berl. Münch. Tier-
ärztl. Wschr. 89, 1-5
- Jacobs, L., J.S. Remington, M.L. Melton (1960): A survey of
meat samples from swine, cattle and sheep for the pre-
sence of encysted Toxoplasma. J. Parasitol. 46, 23-28
- Klima, U. (1979):
Versuche zum Nachweis von Sarkosporidien-Infektionen
bei Haustieren mit dem Enzyme-Linked-Immunesorbent Assay
(ELISA). Vet. med. Diss., München
- Kruijf, J.M. de, T.M. Bibo (1976): Sarcosporidiosis bij Schapen.
Tsohr. Diergeneesk. 101, 1093-1095
- Lankester, E.R. (1882): On the Drepanadium ranarum, the cell para-
sit of the frogs blood and spleen. Quart. J. micr. sci. 12,
53-65
- Leek, R.G., R. Fayer, A.S. Johnson (1977): Sheep experimentally
infected with Sarcocystis from dogs. I. Disease in young
lambs. J. Parasitol. 63, 642-650
- Leek, R.G., R. Fayer (1978): Sheep experimentally infected with
Sarcocystis from dogs. II. Abortion and disease in ewes.
Cornell Vet. 68, 108-123
- Levine, N.D. (1969): Problems in systematics of parasitic pro-
tozoa. In: Problems in systematics in parasites. Uni. Park
Press: Baltimore, 102-123
- Levine, N.D. (1977): Nomenclature of Sarcocystis in ox and sheep
and of fecal coccidia of dog and cat. J. Parasitol. 63,
36-51
- Ludvik, J. (1956): Vergleichende elektronenoptische Untersuchungen
an Toxoplasma gondii und Sarcocystis tenella. Zbl. Bakt.
Hyg., I. Abt. Orig.A 166, 60-65
- Ludvik, J. (1960): The electronmicroscopy of Sarcocystis mie-
scheriana Kühn 1865. J. Protozool. 7, 128-135
- Mehlhorn, H., E. Scholtyssek (1973): Elektronenmikroskopische
Untersuchungen an Zystenstadien von Sarcocystis tenella
aus der Oesophagusmuskulatur des Schafes. Z. Parasitenk. 41,
291-310

- Mehlhorn, H., A.-O. Heydorn, R. Gestrich (1975): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Zysten von *Sarcocystis ovis* in der Muskulatur von Schafen. *Z. Parasitenk.* 48, 83-93
- Mehlhorn, H., W.J. Hartley, A.-O. Heydorn (1976): A comparative ultrastructural study of the cyst wall of 13 *Sarcocystis* species. *Protistol.* 12, 451-467
- Meshkov, S. (1973): *Sarcosporidia* and *sarcosporidiosis* in farm animals. I. *Sarcosporidia* in sheep. *Veterinarnomeditsinsk Nauki* 10, 73-81
- Miescher, F. (1843): Über die eigentümlichen Schläuche an der Muskulatur einer Hausmaus. *Ber. Verh. naturforsch. Ges. Basel* 5, 198-202
- Munday, B.L. (1975): The prevalence of *sarcosporidiosis* in Australian meat animals. *Australian Vet. J.* 51, 478-480
- Munday, B.L., I.K. Barker, M.D. Rickard (1975): The developmental cycle of a species of *Sarcocystis* occurring in dogs and sheep, with observations on pathogenicity in the intermediate host. *Z. Parasitenk.* 46, 111-123
- Munday, B.L. (1977): The economic importance of *Sarcocystis ovis* infection in sheep. *World Ass. Adv. Vet. Parasitol.*, 8 th Intern. Conf., Sydney, 49
- Niederehe, H. (1948): Parasiten als Ursache von allergischen Herzveränderungen bei Schafen. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochr.* 61, 77-79
- Niederehe, H., W. Seele (1959): Die Grenzen des Fleischbeschaugesetzes bei der Beurteilung des mit *Sarcosporidien* (Miescherschen Schläuchen) befallenen Muskelfleisches der Schlachttiere, insbesondere bei Schafen. *Schlacht-Viehhozfz.* 59 155-159
- O'Donoghue, P.J., G.E. Ford (1977): Factors influencing the epidemiology of ovine *sarcosporidia*. *World Ass. vet. Parasitol.*, 8 th Internat. Conf., Sydney, 99
- Piekarski, G., E. Schäfer, R. Niederländer (1961): Mikroskopische und serologische Studien über die Häufigkeit von *Sarcocystis tenella* bei Schafen. *Z. Parasitenk.* 20, 479-488

- Raillet, A. (1886): Psorospermies géantes dans l'oesophagus et les muscles du mouton. Bull. Soc. Centr. med.vet. 40, 130-134
- Retzlaff, M., A. Ludwig (1965): Über die Sarkosporidiose der Schafe. Fleischwirtschaft 45, 345
- Rommel, M., A.-O. Heydorn, F. Gruber (1972): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. I. Die Sporozysten von *S. tenella* in den Fäzes der Katze. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 85, 101-105
- Rommel, M., A.-O. Heydorn, B. Fischle, R. Gestrich (1974): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. V. Weitere Endwirte der Sarkosporidien von Rind, Schaf und Schwein und die Bedeutung des Zwischenwirtes für die Verbreitung dieser Parasiten. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 87, 392-396
- Rommel, M. (1975): Neue Erkenntnisse zur Biologie der Kokzidien, Toxoplasmen, Sarkosporidien und Besnoitien. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 88, 112-117
- Scott, J.W. (1943): Life history of Sarcosporidia, with particular reference to *Sarcocystis tenella*. Univ. Wyo. Agr. Exp. Sta. Bull. 259, 1-63
- Sénaud, J. (1965): Ultrastructure comparee des endodyozoites de *Sarcocystis tenella* et de *Toxoplasma gondii*. Progr. Protozool. 2, 188-189
- Seneviratna, P., A.G. Edward, D.L. De Giusti (1975): Frequency of *Sarcocystis* spp. in Detroit, Metropolitan Area, Michigan, USA. Amer. J. vet. Res. 36, 337-339
- Sibalić, S., B. Tomanović, D. Sibalić (1977): Demonstration of sporocysts of *Sarcocystis* spp. in the feces of dogs. Acta parasitol. Jugoslavica 8, 49-54
- Simpson, Ch.F. (1966): Electron microscopy of *Sarcocystis fusiformis*. J. Parasitol. 52, 607-613
- Streitel, R.H., J.P. Dubey (1976): Prevalence of *Sarcocystis* infection and other intestinal parasitisms in dogs from a human shelter in Ohio. J. Amer. vet. med. Ass. 168, 423-424
- Vel'Yaminov, K.S. (1976): Intensity of infection of various muscles of cattle, sheep and pigs with *Sarcocystis* between 1969 and 1975. Veterinariya, Moskau (12), 87-89

Voller, A., A. Bartlett, D.E. Bidwell (1976): Enzyme immunoassays for parasitic diseases. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 70, 98-106

Zeve, V.H., D.L. Price, C.M. Herman (1966): Electron microscope study of Sarcocystis spp. Expl. Parasitol. 18, 338-346.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch danke ich herzlichst für die Überlassung des Themas und die großzügige Unterstützung meiner Arbeit.

Mein aufrichtiger Dank gilt Herrn Dr. M. Erber, der mir nicht nur mit fachlichem Rat, sondern auch jederzeit kollegial zur Seite stand.

Frl. R. Tayler danke ich für ihre nette und hilfreiche Art während meines Institutsaufenthaltes.

Lebenslauf

Name	Archibald Alexander Harry Bierschenck
Geburtstag und -ort	23. Mai 1941, Erfurt
Eltern	Hans-Helmut Bierschenck (Dipl.-Ing.) und Ehefrau Ilse, geb. Erfurt (Zahnärztin)
Ehefrau	Ilse, geb. Brosius; Heirat 1962
Schulbildung	Volksschule von 1947-1951 in Erfurt Gymnasium von 1951-1961 in München Abschluß: Mittlere Reife (1961)
Berufsausbildung	Handwerkslehre von 1961-1963 in München Abschluß: Maschinenbaugeselle 1. Studium: Allgemeiner Maschinenbau, Flugzeugbau von 1965-1969 in München Abschluß: Ing. grad. 2. Studium: Tiermedizin von 1972/73 - 1977/78 in München Abschluß: Staatsexamen im März 1978 Approbation: München, April 1978
Berufliche Tätigkeit	Als Maschinenbaugeselle von 1963-1965 in München tätig Als Versuchsingenieur von 1969-1972 in Ottobrunn bei München tätig

